

Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. G. Monreal

Feldversuche zur Immunisierung gegen die Newcastle-Krankheit in Verbindung mit Immunitätskontrolle

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Josef Kentrup
Tierarzt aus Langenberg/Westfalen

1972
Journal-Nr. 767

Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. G. Monreal

Feldversuche zur Immunisierung gegen die Newcastle-Krankheit in Verbindung mit Immunitätskontrolle

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Josef Kentrup
Tierarzt aus Langenberg/Westfalen

1972

Journal-Nr. 767

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Vorsitzender:	Prof. Dr. J. Boch
Referent:	Prof. Dr. G. Monreal
Korreferent:	Prof. Dr. H. Hartwigk

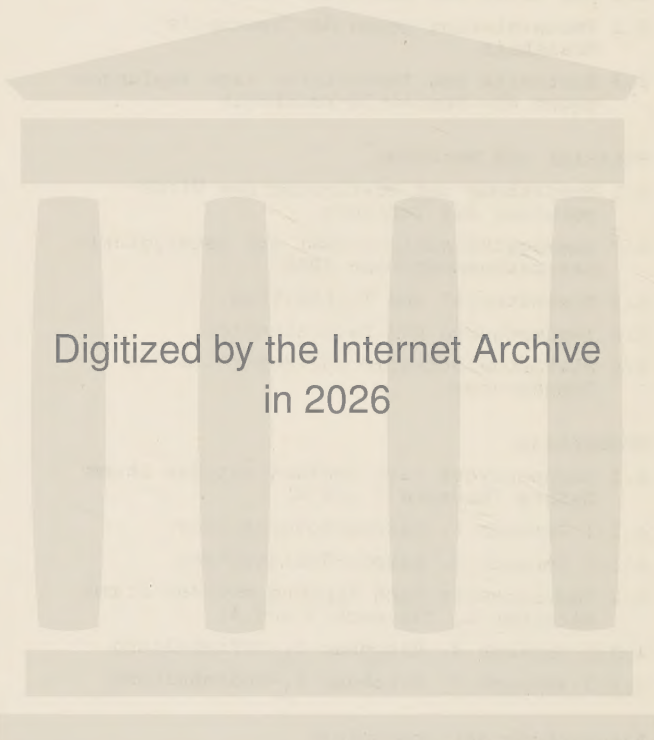


Tag der Promotion: 14. 2. 1972

Meiner lieben Frau

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
1. Einleitung	1
2. Literatur	3
2.1 Das Virus der Newcastle-Krankheit	3
2.2 Immunisierung gegen die Newcastle-Krankheit	5
2.3 Kontrolle des Immunstatus nach Impfungen gegen die Newcastle-Krankheit	11
3. Material und Methoden	14
3.1 Impfstämme und Bestimmung des Virusgehaltes der Vakzinen	14
3.2 Haemagglutinations-(HA) und Haemagglutinationshemmungstest (HAH)	14
3.3 Tiermaterial und Tierhaltung	15
3.4 Impfmethoden und Revakzination	16
3.5 Blutprobenentnahme und Kontrolle des Immunstatus	17
4. Ergebnisse	18
4.1 Immunantwort nach Impfung mit dem Stamm LaSota (Versuch 1 und 2)	18
4.1.1 Versuch 1, LaSota-Bodenhaltung	18
4.1.2 Versuch 2, LaSota-Käfighaltung	21
4.2 Immunantwort nach Impfung mit dem Stamm Hitchner B ₁ (Versuch 3 und 4)	23
4.2.1 Versuch 3, Hitchner B ₁ -Käfighaltung	23
4.2.2. Versuch 4, Hitchner B ₁ -Bodenhaltung	27
5. Besprechung der Ergebnisse	29
6. Zusammenfassung	34
7. Summary	35
8. Literaturverzeichnis	36
Lebenslauf	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. EINLEITUNG

Die Newcastle-Krankheit (Newcastle Disease (ND), "Atypische" oder "Asiatische" Geflügelpest) führte in den vergangenen 30 Jahren in drei großen Seuchenzügen zu erheblichen Verlusten für die deutsche und europäische Landwirtschaft (16, 19).

Dagegen konnte in diesem Zeitraum die "Europäische" oder "Klassische" Geflügelpest, die um 1880 erstmalig in Italien als selbständige Krankheit erkannt wurde und sich im Jahre 1901 von Italien ausgehend über Österreich, Deutschland, Schweiz, Tschechoslowakei und Rumänien ausbreitete, in Europa nicht mehr festgestellt werden (19, 23).

Die im 2. Weltkrieg aus Afrika über Italien nach Mitteleuropa eingeschleppte und seitdem stationäre Newcastle-Krankheit ist eine hochgradig kontagiöse Virusinfektion, die vorwiegend bei Hühnervögeln, neuerdings aber auch bei Tauben und Psittaciden beschrieben wurde (41).

Je nach der Virulenz des Erregers, dem Immunstatus und allgemeinen Gesundheitszustand der Herden werden ein subklinischer, protrahierter und akuter Krankheitsverlauf beobachtet, der einerseits zu einer schleichenden Verlaufsform mit Appetitmangel, Abfall der Legeleistung und Atembeschwerden führt. Andererseits findet sich bei der protrahierten und akuten Form ein rapider Abfall der Eierproduktion, gleichzeitig eine Verweigerung der Nahrungsaufnahme. Der Kot wird dünnflüssig und vielfach grünlich verfärbt. Atembeschwerden, Nasenausfluß und eine rasch ansteigende Mortalität - bis zu 50 % und darüber - charakterisieren diesen schweren Krankheitsverlauf. Als Spätschäden treten häufig nervöse Symptome mit Verdrehen des Kopfes und Ataxien auf.

Pathologisch-anatomische Veränderungen sind besonders beim protrahierten Verlauf typisch. Es findet sich das Bild der haemorrhagischen Septikämie, wobei punktförmige Blutungen an den Drüsenausführungsgängen des Vormagens, blutig infiltrierte Eifollikel und in der Darmschleimhaut bis bohngroße Nekrosen pathognomonisch sind.

Zur Prophylaxe dieser verlustreichen Seuche werden zur Zeit in der Bundesrepublik neben Adsorbatvaccinen überwiegend die lentogenen Impfstämme Hitchner B₁ und LaSota verwendet. Besonders durch den Einsatz dieser sog. Lebendvakzinen gelang es, auch in Großbetrieben in den letzten sieben Jahren die Verluste durch die Newcastle-Krankheit auf ein Mindestmaß zu reduzieren.

Als jedoch Ende 1970 von Holland ausgehend ein massiver Seuchenzug der Newcastle Disease auf die Bundesrepublik übergriff, wurden immer wieder Impfdurchbrüche in "vorschriftsmäßig geimpften" Betrieben gemeldet. Die Ursachen dieser mäßigen Impferfolge sind weitgehend ungeklärt und werden einerseits in den hochtechnisierten Haltungs- und Aufzuchtssystemen, andererseits in unsachgemäßer Applikation des Impfstoffes vermutet.

In den vorliegenden Untersuchungen sollte in Betrieben mit verschiedenen Haltungsformen überprüft werden, inwieweit bei korrekter Anwendung überprüfter Impfstoffe eine ausreichende Immunisierung der Herden zu erzielen war. Darüber hinaus erschien es wichtig festzustellen, welche Faktoren die Impferfolge negativ beeinflussen können.

2. LITERATUR

2.1 Das Virus der Newcastle Disease

Das Virus der Newcastle-Krankheit ist als Paramyxovirus mit einer durchschnittlichen Größe von 120 nm klassifiziert. Die infektiöse Komponente besteht aus Ribonukleinsäure (RNS) und liegt in Form einer knotenartig gewundenen Helix als Nukleoproteinanteil im Innern des Virus. Diese auch als RNP-Antigen zu bezeichnende Innenkomponente ist nach außen von einer Hülle, dem sogenannten Envelop, umgeben, welches neben virusspezifischen Bestandteilen auch Anteile besitzt, die direkt von der Wirtszelle beim Ausschleusungsprozeß in das Envelop inkorporiert werden. Im Envelop des Newcastlevirus ist ein Enzym, die Neuraminidase, vor allem aber das für die vorliegenden Untersuchungen bedeutungsvolle Haemagglutinin lokalisiert. Schließlich befindet sich im Envelop die immunogene Komponente, die im Wirtsorganismus die Bildung der gegen das Newcastlevirus gerichteten Antikörper induziert (45).

Diese immunogene Komponente ist offensichtlich bei den Newcastle-Stämmen weitgehend identisch, denn Antigendifferenzen konnten bei keinem der in Deutschland aus Seuchenausbrüchen isolierten ND-Virusstämmen festgestellt werden (17). Diese Ergebnisse wurden von KENDAL und ALLEN (33) in England bestätigt, die 14 NDV-Stämme verschiedener Virulenz untersuchten und keine serologischen Unterschiede fanden. Diese Feststellung ist insbesondere für die Auswahl geeigneter Impfstämme wesentlich, da auf eine verschiedenartige Antigenität des Virusmaterials keine Rücksicht genommen werden muß.

Eine Eingruppierung der NDV-Stämme erfolgt daher lediglich nach der unterschiedlichen Virulenz. So werden hoch pathogene, sogenannte velogene von mesogenen und lentogenen New-

castlevirusstämmen unterschieden. Während sich die velogenen NDV-Stämme durch eine hohe Mortalitätsrate bei Feldinfektion auszeichnen, sind die mesogenen NDV-Stämme weit weniger pathogen. So führen zum Beispiel die mesogenen Stämme Hertfordshire, Mukteswar und Komarov (oder Haifa-Stamm) bei infizierten erwachsenen Hühnern zu einem Rückgang in der Legeleistung und leichten respiratorischen Symptomen, jedoch geht der Prozentsatz der Mortalität nicht über 2 hinaus (42). Die lentogenen NDV-Stämme Hitchner B₁, Stamm F und LaSota werden von Hühnern jeden Alters bis auf gelegentlich beobachtete leichte respiratorische Störungen reaktionslos vertragen und eignen sich deshalb zur Verwendung als Lebendvakzinen für die orale Immunisierung (37, 42, 49, 60). Mesogene Lebendvakzinen werden hingegen mit Hilfe der Flügelstichmethode (Wing-web) appliziert (15, 42).

Zur Differenzierung von NDV-Stämmen werden der intracerebrale Pathogenitätsindex (I.C.P.I.) für Eintagsküken, ferner der intravenöse Pathogenitätsindex für 6 Wochen alte empfängliche Küken sowie die Stabilität des Hämagglutinins bei 56°C und die Anwesenheit von Hämagglutinin gegen Säugetier-Erythrozyten herangezogen. Die Bestimmung des I.C.P.I. nach HANSON (25) ist inzwischen zur Standard-Methode geworden und wurde auch in die deutschen "Richtlinien für die Herstellung und Prüfung von Lebendvaccine zur Immunisierung gegen die atypische Geflügelpest" aufgenommen (44). Danach gelten als lentogene NDV-Stämme diejenigen, deren neuropathischer Index nicht größer als 0,2 ist. HANSON und Mitarbeiter (25) beschreiben als zusätzliche Methode zur Differenzierung von NDV-Stämmen noch den intracerebralen Pathogenitäts-Index an Mäusen sowie einen Plaque-Test in Hühner-Embryo-Fibroblasten-(HEF-)Kulturen. ADAMS (1) erwähnt gleichfalls eine Methode zur Differenzierung von NDV-Stämmen in Kükengliazell-Kulturen. Dabei ordnet er den F-Stamm, der allgemein als lentogener Stamm beschrieben wurde (42, 65), in die Gruppe der

mesogenen Stämme ein. Die Eingruppierung eines zu untersuchenden Stammes ist also nicht unwesentlich von der angewendeten Pathogenitäts-Test-Methode abhängig. BENGELSDORFF und KAYSER (11) befürworten bei der Durchführung des eingeführten intracerebralen Pathogenitätsindexes für Eintagsküken an Stelle des bisher üblichen Beobachtungszeitraumes von acht Tagen einen Beobachtungszeitraum von 14 Tagen, um die Restpathogenität der geprüften Impfstämme für Küken restlos aufzudecken.

2.2 Immunisierung gegen die Newcastle-Krankheit

Zur Impfprophylaxe stehen grundsätzlich zwei verschiedenartige Vakzinen zur Verfügung, und zwar Adsorbatvakzinen mit inaktiviertem Virus sowie Vakzinen aus nicht inaktiviertem Virus, die sogenannten Lebendvakzinen, die im lyophilisierten Zustand in den Handel gebracht und vornehmlich als Trinkwasserimpfstoff angewendet werden. Das Virus der Lebendvakzinen kann für die parenterale Applikation auch an ein Adsorptionsmittel gebunden sein. Als eine weitere prophylaktische Maßnahme wäre noch die Applikation von Hochimmunserum zu erwähnen, die jedoch neben hohen Kosten und zeitraubender Verabreichung vor allem in ihrer zeitlich begrenzten Schutzwirkung unbefriedigend ist, die Tiere zudem nicht vor einer aerogenen Infektion geschützt werden (4). Bei den Adsorbat-"Totvakzinen" wird in Eikulturen oder Gewebekulturen vermehrtes Virus verschiedenster Newcastle-Virusstämme an Adsorptionsmittel gebunden, i.d.R. an Aluminiumhydroxyd. Zur Inaktivierung werden Formaldehyd, Kristallviolett oder -Propriolaktol verwendet (29, 57).

Die in Deutschland bisher angewendete Adsorbatvakzine ist der mit inaktiviertem Virus von TRAUB (58) entwickelte Impf-

stoff. TRAUB empfiehlt bei einmaliger Injektion 2 ml intramuskulär oder subkutan und bei zweimaliger Injektion je 1 ml. Der Zeitpunkt der Erstimpfung soll bei Küken nicht unter einem Alter von 14 Tagen liegen, da ein Vorhandensein maternalen Antikörper und eine noch nicht voll entwickelte Immunkompetenz die Ausbildung eigener Antikörper hemmt. Die Zweitimpfung wird nach 2-3 Wochen vorgenommen. Danach entwickelt sich ein sehr dauerhafter Impfschutz, der durch Wiederholungsimpfungen im Abstand von 6-9 Monaten aufrechterhalten werden kann. Auch die Kombination von inaktivierten Adsorbatvakzinen und Lebendvakzinen wird von einigen Autoren empfohlen (49). Die Applikation von Adsorbatvakzine (1 mal 1 ml) bei legereifen Tieren, die als Küken und Junghennen mit Trinkwasservakzine ein- oder mehrfach immunisiert waren, wurde vielfach empfohlen und mit Erfolg angewendet (20). Andererseits fand SCHNEIDER (49), daß auch sechs Tage nach einer Erstimpfung mit Adsorbatvakzine eine Zweitimpfung mit dem mesogenen Stamm Hertfordshire einen starken Boostereffekt zur Folge hatte.

Die Vorteile der Adsorbatimpfung liegen hauptsächlich in der genauen Dosierbarkeit des Impfstoffes, aber auch in der Ausbildung eines dauerhaften Impfschutzes. Jedoch überwiegen die Nachteile besonders im Hinblick auf die heutigen Formen der Massentierhaltung, die eine intramuskuläre Einzelapplikation bei großen Tierzahlen nahezu unmöglich machen. Nachteilig bei der Adsorbatimpfung ist weiterhin, daß Küken unter sechs Wochen nicht ausreichend immunisiert werden können und sich der Impfschutz erst frühestens nach fünf Tagen auszubilden beginnt.

In praktisch allen größeren Geflügelhaltungen Deutschlands wird gegen die Newcastle-Krankheit mit den beiden heute zugelassenen lentogenen ND-Stämmen Hitchner B₁ und LaSota geimpft. Die Verabreichung dieser Impfstoffe erfolgt peroral

mit dem Trinkwasser oder kutan (Wing-Web-Methode). Bei der kutanen Flügelstichmethode werden auch mesogene ND-Stämme (in Deutschland nicht zugelassen) oder hochkonzentrierte lentogene Stämme verwendet, die an Aluminiumhydroxyd adsorbiert sein können. Die Flügelstichimpfung wird in Verbindung mit einem Pockenimpfstoff durchgeführt, wobei beide Virusstämme in einer Lösung gemischt in einem Arbeitsgang appliziert werden können (9, 27). Schließlich kann auch ein Adsorbatimpfstoff aus nicht inaktiviertem lentogenen Virus zur intramuskulären Injektion verwendet werden, der eine exakte Dosierung für das Einzeltier ermöglicht (11, 51).

Die ersten Untersuchungen über die Möglichkeit des Einsatzes von lentogenen Newcastlestämmen für die Immunprophylaxe der Newcastle-Krankheit liegen von HITCHNER und JOHNSON (28) bereits aus dem Jahre 1948 vor. Die Zahl der inzwischen über diesen Themenkreis erschienenen Publikationen ist im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit kaum mehr zu überschauen (siehe u.a. Literatur bei GRATZL-KÖHLER (23)). Wesentlich für diese Untersuchungen sind Arbeiten über die Durchführung der Immunprophylaxe mit der Trinkwasservakzine (6,8,21,26, 30,32,34,35,36,37,40,48,50,53,56,60,62). Hierbei ist die Aufmerksamkeit u.a. auf einige wesentliche Fragen der Impfprogramme zu richten, wobei die neuesten Ergebnisse berücksichtigt werden sollen.

LANDGRAF und VIELITZ (35) beschreiben in ihren umfangreichen Untersuchungen über den Impferfolg verschiedener Impfprogramme vier verschiedene Prophylaxepläne gegen die Newcastle Disease. Die Wirksamkeit dieser Impfprogramme überprüften die Autoren mit Hilfe des HAH-Testes sowie mit Testinfektionen. Sie sagen zusammenfassend aus, daß alle Impfprogramme (Adsorbat-Impfstoff sowie Lebend-Impfstoffe mit den Virusstämmen Hitchner B₁ und LaSota) von den Impflingen reaktions-

los vertragen wurden. Alle Impfprogramme waren auch in der Lage, während der Beobachtungszeit die geimpften Herden vor dem Ausbruch einer Newcastle-Erkrankung mit Todesfällen zu schützen. Keines der geprüften Impfschemata war jedoch ausreichend, in Legehennen-Herden Leistungseinbrüchen nach einer ND-Infektion vorzubeugen. Die relativ besten Programme zur wirksamen Immunisierung einer Legehennen-Herde gegen die Newcastle Disease waren in diesen Versuchen: die zweimalige Verabreichung einer Trinkwasser-Lebendvakzine mit dem Virusstamm LaSota in der 4. und 15. Lebenswoche und die fünfmalige Verabreichung einer Lebendvakzine mit dem Virusstamm Hitchner B₁ in der 4., 8., 18., 30. und 42. Lebenswoche. Die Hitchner B₁-Vakzine wurde zum Zeitpunkt der achten Lebenswoche kombiniert mit einem Pockenimpfstoff nach der Wing-Web-Methode verabreicht. Zu den übrigen Zeitpunkten erfolgte die Verabreichung per os über das Trinkwasser. STUMPEL (54) befürwortet eine zweimalige Vakzination mit Trinkwasser-Lebendvakzine des Virusstammes LaSota im Alter von acht und 21 Wochen. Er beschreibt Feldversuche, bei denen Tiere 42 Wochen nach der 2. Impfung noch einen ausreichenden Impfschutz aufweisen.

Der Erfolg einer aktiven Immunisierung ist weitgehend abhängig von den beiden Reaktionspartnern, nämlich Wirt und Erreger. Da bei der Lebendvakzination dem Tier ein vermehrungsfähiges Virus verabreicht wird, das sich im Sinne einer Infektion erst im Tierkörper vermehren muß, um eine Antikörperbildung zu stimulieren, ist es wesentlich, daß einerseits eine ausreichende Virusmenge appliziert wird, um diese Infektion zur Haftung zu bringen. Andererseits muß sich das Tier in einem Alters- und Gesundheitszustand befinden, der eine Infektion und nachfolgende Antikörperbildung ermöglicht. Besonders das Vorliegen von Krankheiten beeinflusst negativ die Immunitätsbildung (23). So fanden z.B. GRASHUBER und STÖCKEL (22) sowie SATO et al. (47), daß beim Vorliegen auch

schon einer subklinischen Infektion von Salm. pullorum bzw. einer Mycoplasmosen die Impftiter im Haemagglutinationshemmungstest (HAH) deutlich erniedrigt waren im Vergleich zu gesunden Tieren. Darüber hinaus kann in solchen Fällen auch das avirulente ND-Virus zur Auslösung einer Atemerkran-
kung führen (47). Die Untersuchungen von MONREAL et al. (40) zeigen andererseits, daß sich die Marekimpfung nicht nach-
teilig auf die Antikörperentwicklung auswirkt.

Von wesentlicher Bedeutung für eine erfolgreiche Impfung mit lentogenen Stämmen ist die Virusmenge, die für jedes Tier zur Verfügung stehen muß. Sie darf eine Minimalschwelle nicht unterschreiten. In ihren Untersuchungen über die Immu-
nisierung gegen die Newcastle Disease ermittelten WINTER-
FIELD und SEADALE (63, 65) für die Hitchner B₁-Vakzine eine erforderliche Viruskonzentration von $2,3 \times 10^5$ EID₅₀ pro ml Trinkwasser, um eine belastbare Immunität zu erzielen, wobei die Tiere durchschnittlich 8 ml des virushaltigen Trinkwas-
sers aufnahmen. Bezüglich der zeitlichen Dauer der Impf-
stoffapplikation über das Trinkwasser stellten die Autoren fest, daß nach 4-stündiger Durstzeit die Tiere innerhalb von zwei Stunden gleiche Virusmengen aufnahmen wie in einer 8 bis 24-stündigen Applikationszeit mit derselben Virusmen-
ge und somit die Immunitätsbildung gleich war. Die weitge-
hende Apathogenität des Hitchner B₁-Stammes zeigte sich bei der Virusapplikation von 2×10^8 EID₅₀ pro Küken, wobei außer leichten respiratorischen Krankheitserscheinungen kei-
ne postvakzinalen Komplikationen beobachtet werden konnten (64). Beim LaSota-Stamm lag die nötige Virusmenge für eine ausreichende Immunisierung niedriger. Hier genügte eine Vi-
ruskonzentration von $10^{3,4}$ EID₅₀ pro ml Trinkwasser, um eine belastungsfähige Immunität zu stimulieren. Bei gleicher Vi-
ruskonzentration von Hitchner B₁ und LaSota-Vakzine erreich-
ten die Antikörperwerte der LaSota geimpften Tiere im HAH-
Test höhere Werte. Diese Feststellungen bestätigen auch die

Untersuchungen von MONREAL et al. (40) über die Minimaldosen von Newcastle-Trinkwasservakzinen, die bei genau dosierter Virusapplikation an Einzeltieren nur bei der LaSota-Vakzine mit etwa 10^4 EID₅₀ pro Küken eine Immunantwort bei allen infizierten Tieren nachweisen konnten, während bei Hitchner B₁ hierzu eine noch höhere Dosis erforderlich war.

Wesentlich für das Angehen einer Impfinfektion bei Küken ist der Antikörperstatus, d.h. das Vorliegen von maternalen Antikörpern. WINTERFIELD und SEADALE (64) konnten mit der Hitchner B₁-Vakzine bei 4 bis 14 Tage alten Küken mit hohen maternalen Antikörpertitern nur bei 30% der Tiere die Bildung virusneutralisierender Antikörper induzieren. Erst bei der Impfung drei Wochen alter Küken mit Viruskonzentrationen über 10^6 EID₅₀ pro Tier wurden befriedigende Immunisierungsergebnisse erzielt. Besonderen Einfluß auf die Immunitätsbildung hat der Applikationsweg der Lebendvakzinen. BEARD und EASTERDAY (3) untersuchten vergleichend die Entwicklung der haemagglutinationshemmenden Antikörper nach intramuskulärer, konjunktivaler, nasaler und nach einer Spray-Vakzination. Die Spray-Vakzination erbrachte die höchsten HAH-Titerwerte im Vergleich mit den übrigen Impfmethoden, obwohl dabei pro Tier weniger Antigen zur Verfügung stand. Auch im Belastungsversuch erwies sich die Immunität nach der Spray-Impfung stabiler als bei den anderen Applikationsarten, sowohl nach intramuskulärem als auch nach aerogenem Challenge. Die intramuskulär vakzinierten Tiere hielten dagegen der aerogenen Belastungsinfektion nicht stand. Daraus ist ersichtlich, daß das Vorhandensein von zirkulierenden Antikörpern noch kein Indiz für einen belastungsfähigen Impfschutz darstellt. Demnach kann gefolgert werden, daß ein intramuskulär durchgeführter Challenge keine sichere Auskunft über den aktuellen Immunstatus geben kann. Wie BEARD und EASTERDAY (5) weiterhin nachweisen konnten, ist die Immunität wesentlich vom Vorhandensein zellständiger spe-

zifischer ND-Antikörper abhängig. Aus diesem Grunde scheint die Spray-Vakzination für die Antikörperbildung in den Schleimhäuten des Nasen-Rachenraumes die erfolgversprechendste Impfstoffapplikation zu sein (2, 55). Die Autoren weisen darauf hin, daß diese Ergebnisse in Einklang mit Untersuchungen bei der Influenza A- und Poliomyelitis-Infektion stehen. Auch bei diesen Virusinfektionen bedingt das Vorhandensein von humoralen Antikörpern noch keinen Schutz für den Respirations- und Verdauungstrakt. Die Spray-Vakzination konnte bisher noch keine breitere Anwendung finden, da einige technische Probleme ungelöst sind, insbesondere hinsichtlich der Tröpfchengröße und des Mangels an einem geeigneten Sprühgerät.

2.3 Kontrolle des Immunstatus nach Impfungen gegen die Newcastle-Krankheit

Eine kritische Betrachtung der in der Literatur niedergelegten Daten über die Erzielung eines Impfschutzes nach Anwendung von nicht inaktivierten Impfstoffen aus lentogenen Virusstämmen über das Trinkwasser zeigt, daß für eine erfolgreiche Impfung, insbesondere in großen Geflügelbeständen, eine Reihe von Voraussetzungen erfüllt sein müssen. Beobachtungen aus der Praxis im Verlauf des gegenwärtigen Seuchenzuges bestätigen diese Tatsache. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, durchgeführte Impfmaßnahmen auf ihren Erfolg zu kontrollieren (39).

Für die Überwachung der Immunität von Tierbeständen ist dabei eine genaue, d.h. spezifische Untersuchungsmethode zu fordern. Die Untersuchungen von BEARD und EASTERDAY (3) und KALETA und SIEGMANN (32) ergeben übereinstimmend eine enge Korrelation zwischen den haemagglutinationshemmenden und virusneutralisierenden Antikörpern, die sich in den ersten Wo-

chen nach einer Antigenstimulation parallel bewegen. KALETA und SIEGMANN wiesen bei einem Vergleich der haemagglutinationshemmenden und virusneutralisierenden Antikörper dem HAH-Test eine größere Spezifität nach, so daß dieser für den Antikörpernachweis zur Immunitätskontrolle am günstigsten herangezogen werden kann.

Da bisher noch keine gesicherte Methode zum Nachweis der zellständigen Antikörper entwickelt werden konnte, bietet der HAH-Test unter der Voraussetzung, daß bei einer Lebendvakzination die Schleimhäute des Nasen-Rachenraumes nicht umgangen werden, die größte Aussagekraft für die Beurteilung des Immunstatus bei der Newcastle Disease.

Die Durchführung des Haemagglutinationshemmungstestes (HAH) mit Serum- bzw. Plasmaproben ist in einem diagnostischen Laboratorium heute kein Problem. Schwieriger gestaltet sich jedoch die Interpretation der gefundenen Werte hinsichtlich ihrer Aussage über den Immunitätszustand einer Herde. Eindeutige Werte über die Höhe der Titer, ihre Verteilung und Mittelwerte, die eine exakte Beurteilung einer Herde ermöglichen, konnten in der vorliegenden Literatur nicht gefunden werden.

Die Einführung der Titerkennzahl (TKZ) durch KALETA und SIEGMANN (32) gestattet es in verbesserter Form, als es VOETEN et al. (61) mit der Transformation der HAH-Titerwerte in die Logarithmen zur Basis 2 zulassen, eine Mittelwertberechnung durchzuführen. Durch Vergrößerung des negativen Logarithmus zur Basis 2 um den Summanden 1 und Multiplikation mit -1 können die Untersuchungsergebnisse auf einfache Weise als eine rationale Zahl ausgedrückt werden. Dadurch ergibt sich aus der asymmetrischen Titerverteilung einer untersuchten Stichprobe eine Normalverteilung, aus der Mittelwerte und Streuungen leicht errechnet werden können. Liegen bei

Stichprobenuntersuchungen die Werte der Titerkennzahlen innerhalb der Normalverteilung, so spricht das für eine ausgeglichene Herdenimmunität (46).

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Impfstämme und Bestimmung des Virusgehaltes der Vakzinen

Als Impfstoffe dienten aus dem Handel bezogene Trinkwasser-Lebendvakzinen der lentogenen Virusstämme Hitchner B₁ und LaSota.

Zur Bestimmung des Virusgehaltes wurden Ampullen derselben Chargen herangezogen. Dazu wurden die gefriergetrockneten Vakzinen mit 10 ml m/90 Phosphatpuffer aufgelöst, in 10er Potenzen verdünnt und in die Allantoishöhle 10 Tage alter Hühnerembryonen verimpft. Pro Verdünnungsstufe wurden mindestens fünf SPF-Bruteier mit jeweils 0,1 ml beimpft. Die weitere Bebrütung erfolgte bei 37°C, wobei die Allantoisflüssigkeit der bis zum 6. Tag p.i. abgestorbenen Embryonen geerntet und nachfolgend im Haemagglutinationstest (HA) auf das Vorhandensein haemagglutinierender Aktivität untersucht wurde. Die EID₅₀ wurde nach der Methode von REED und MUENCH (43) berechnet. Die einzelnen Chargen, die jeweils für die Impfung von 1000 Tieren vorgesehen waren, hatten im einzelnen folgende Virusgehalte:

- | | | | | |
|-------------|-------------------|-----------------------------|--------------|---|
| 1. Versuch: | Impfstamm LaSota, | 1.u.2.Impfung | = | $10^{10,5}$ EID ₅₀ /10 ml |
| 2. | " | " | , 1.Impfung | = $10^{10,5}$ EID ₅₀ /10 ml |
| | | 2.Impfung | = | $10^{9,8}$ EID ₅₀ /10 ml |
| 3. | " | " Hitchner B ₁ , | 1.u.2.Impfg. | = $10^{10,25}$ EID ₅₀ /10 ml |
| 4. | " | " | " | = $10^{10,18}$ EID ₅₀ /10 ml |

3.2 Haemagglutinations- (HA) und Haemagglutinations- hemmungstest (HAH)

Beide Reaktionen wurden in der Mikromethode (Mikrotitersystem) durchgeführt. Im Haemagglutinationstest wurden zu 0,025 ml physiologischer Kochsalzlösung 0,025 ml Allantois-

flüssigkeit gegeben und in 2er Potenzen weiterverdünnt. Es folgte die Zugabe von 0,05 ml einer 0,75%igen Hühnererythrozytensuspension in jede Verdünnungsstufe. Nach 35-minütiger Reaktionszeit bei Zimmertemperatur wurde das Ergebnis abgelesen, wobei die letzte ablesbare Haemagglutination den Titer ergab.

Zum Nachweis der haemagglutinationshemmenden Antikörper wurde entsprechend der β -Methode von den zu untersuchenden Seren eine Verdünnungsreihe in 2er Potenzen mit 0,025 ml physiolog. NaCl und 0,025 ml Serum aufgestellt. Es folgte die Zugabe von 0,025 ml einer Virusverdünnung mit vier haemagglutinierenden Einheiten des NDV-Stammes Montana. Nach 10-minütiger Reaktionszeit wurden 0,05 ml einer 0,75%igen Erythrozytensuspension hinzugesetzt und nach 35 Minuten abgelesen. Hier ergab diejenige Serumverdünnung, die noch eine vollständige Haemagglutinationshemmung erkennen ließ, den Titer.

3.3 Tiermaterial und Tierhaltung

In vier Versuchen wurden an Legehybridküken beginnend mit dem 1. Lebenstag bis zur durchschnittlich 22. Lebenswoche der Verlauf der Immunitätsbildung nach Impfung gegen die ND überprüft. Die Hitchner B₁- und LaSota-Vakzinierung wurde vergleichend in Betrieben mit Boden- und Käfighaltung vorgenommen. Bei der Suche nach geeigneten Betrieben konnten zwei Farmen mit relativ neuen Stallungen gefunden werden, die in hygienischer Hinsicht einwandfrei waren und nach den neuesten Erkenntnissen in bezug auf Wärmedämmung, Be- und Entlüftung sowie optimaler Futter- und Wasserversorgung nahezu vollautomatisch eingerichtet waren.

In dem ersten Betrieb mit einer Gesamtkapazität von 20.000 Tieren wurden die Versuche 1, 3 und 4 an jeweils 4.000 Kü-

ken durchgeführt, in einem zweiten Betrieb mit einer Gesamtkapazität von 45.000 Tieren erfolgte Versuch 2 an einer Gruppe von 10.000 Tieren. Bei jedem Versuch wurden 60 Küken bei der ersten Blutentnahme dauerhaft gekennzeichnet, um alle folgenden Untersuchungen an den gleichen Tieren vornehmen und mit den vorausgegangenen Ergebnissen vergleichen zu können.

Weitere Einzelheiten über die Versuchsanordnung sind zusammen mit den Ergebnissen niedergelegt.

3.4 Impfmethoden und Revakzination

Sämtliche Impfungen wurden per os über das Trinkwasser durchgeführt. In den Stallungen mit Bodenhaltung erfolgte die Wasserversorgung der Tiere über Rinnentränken, während in den Käfighaltungen Nippeltränken installiert waren. Zwei Stunden vor Applikation des Impfstoffes wurde zunächst die kontinuierliche Wasserzufuhr abgestellt, so daß die Tiere einige Zeit dursten mußten. Entsprechend der Tierzahl wurde die notwendige Impfstoffmenge in einem Eimer mit Leitungswasser vorgelöst und in den Vorlaufbehältern mit soviel Wasser gemischt, wie voraussichtlich innerhalb der nächsten zwei Stunden aufgenommen werden konnte.

Die Erstimpfung erfolgte in allen vier Versuchen in der dritten Lebenswoche der Küken. Die Revakzinierung wurde in Versuch 1 mit 17 Wochen, in Versuch 2 mit 16 Wochen und in Versuch 3 und 4 mit 10 bzw. 12 Wochen durchgeführt.

3.5 Blutprobenentnahme und Kontrolle des Immunstatus

Zur Bestimmung der maternalen Antikörper wurden in jedem Versuch jeweils 15 Eintagsküken dekapitiert und das Blut in heparinisierten Röhrchen aufgefangen.

Die erste Blutentnahme erfolgte zum Zeitpunkt der Erstimpfung ebenfalls in heparinisierte Blutröhrchen, so daß für alle serologischen Untersuchungen Plasma herangezogen wurde. Die Blutentnahme wurde an der V. ulnaris vorgenommen. Spätestens 2-3 Tage nach der Entnahme wurde die Untersuchung des Plasmas im Institut durchgeführt. Der Antikörperstatus wurde in der 2., 3., 6. bzw. 8. Woche p.v., zum Zeitpunkt der Revakzination und letztmalig 3 Wochen nach der Zweitimpfung, in zwei Versuchen zusätzlich noch 7 Wochen danach, bestimmt.

Die Umrechnung der Titerwerte in die Titerkennzahlen (TKZ) wurde mit Hilfe der folgenden Aufstellung nach KALETA und SIEGMANN (32) vorgenommen:

HAH-Titer	Titerkennzahl (TKZ)
0	0
1 : 1	1
1 : 2	2
1 : 4	3
1 : 8	4
1 : 16	5
1 : 32	6
1 : 64	7
1 : 128	8
1 : 256	9

4. ERGEBNISSE

4.1 Immunantwort nach Impfung mit dem Stamm LaSota (Versuche 1 und 2)

4.1.1 Versuch 1, LaSota-Bodenhaltung

In dem Versuch befanden sich 4.000 Küken. Der Stall war in fünf Abteilungen von je 10 x 11 m eingeteilt, die mit jeweils 800 Tieren besetzt waren.

Die Wasserversorgung erfolgte zentral von einem Vorlaufbehälter durch Druckpumpe auf Rinnentränken von 2 m Länge (3 Stück pro Abteil). Die 60 gekennzeichneten Tiere befanden sich in der 1., 3. und 5. Stallabteilung.

Die Impfungen erfolgten in der Weise, daß die nötige Impfstoffmenge vorgelöst in den Vorlaufbehälter gegeben wurde und mit Hilfe der Druckpumpen in die Tränken gelangte. Etwa 10 Minuten nach Eingabe in den Vorlaufbehälter waren sämtliche Rinnentränken gefüllt. Das impfstoffhaltige Trinkwasser stand ca. 1 1/2 Stunden zur Verfügung. Vor der Impfung hatten die Tiere einige Zeit gedurstet.

Die Elterntiere dieser Kükenherde waren 2 Monate vor dem Schlupf der Küken mit Hitchner B₁-Vakzine geimpft worden. Die Überprüfung von 15 Eintagsküken aus diesem Schlupf ergab Titerwerte von 1 : 8 bis 1 : 32, das Mittel der TKZ betrug 4,7. Zum Zeitpunkt der 1. Impfung konnten bei 7 von 60 Küken Titer von 1 : 2 bei sonst negativen Reaktionen ermittelt werden. Das ergibt ein arithmetisches Mittel der TKZ von 0,2 und läßt erkennen, daß die maternale Immunität zu diesem Zeitpunkt stark abgesunken war.

Einzelheiten über den Ablauf des Versuches sind der Tabelle 1 und Abbildung 1 zu entnehmen.

Versuch 1

TKZ	arithmet. Mittel d. TKZ	Verteilung der TKZ								
		x 0	x 2	x 3	x 4	x 5	x 6	x 7	x 8	
*bei der 1. Impfung	0,2	53	7	0	0	0	0	0	0	
2 Wo.p.i.	4,7	0	3	6	12	25	11	3	0	
3 Wo.p.i.	3,8	31	5	6	12	5	0	0	0	
8 Wo.p.i.	1,8	16	29	13	2	0	0	0	0	
17 Wo.p.i.*	2,2	8	33	10	4	2	1	0	0	
3 Wo.p.r.	3,4	13	9	7	5	8	6	4	3	
7 Wo.p.r.	3,6	12	1	8	9	11	3	5	1	

Tab. 1: Verlauf der Antikörperbildung bei LaSota-Impfung in der Bodenhaltung. HAH-Titer in TKZ umgerechnet.
*Zeitpunkt der Revakzination

Zahl der Seren

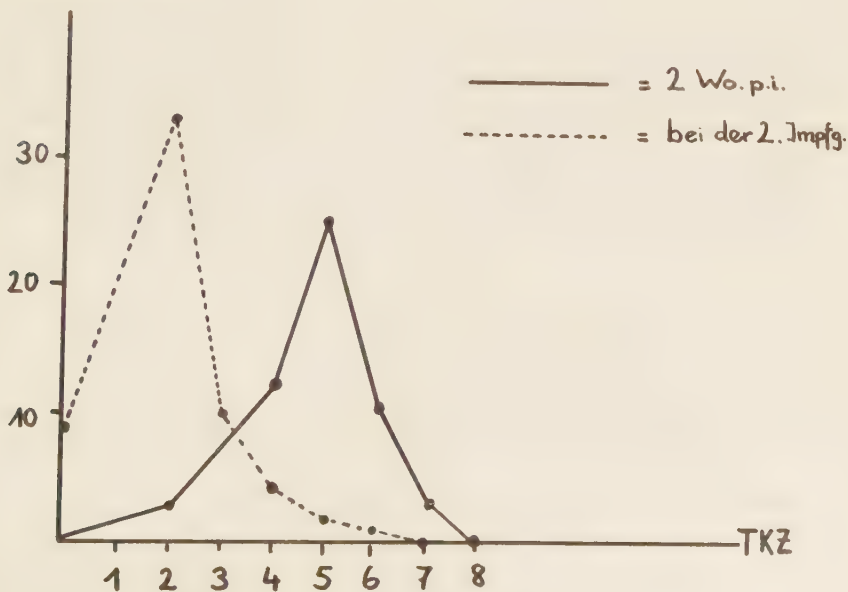


Abb. 1: Verteilung der TKZ

Die serologische Untersuchung 2 Wochen nach der Impfung (p.i.) zeigt, daß alle Kontrolltiere Titerwerte von 1 : 2 bis zu einem Maximaltiter von 1 : 64 (TKZ = 7) entwickelt haben. Die Verteilung dieser Titerwerte ist, wie aus Abb. 1 ersichtlich, durchaus als Normalverteilung anzusehen.

Drei Wochen nach der Impfinfektion ist bereits ein Abfall des TKZ-Mittelwertes festzustellen, wobei ein erstaunlich großer Teil der Tiere keine haemagglutinationshemmenden Antikörper aufweisen. Bei den späteren Blutentnahmen verringert sich die Zahl der nicht reagierenden Tiere wieder.

Der Verlauf des Immunstatus der Herde, wie er sich aus dem Mittel der TKZ bei den Kontrolltieren ergibt, ist in Abb. 5 graphisch dargestellt. Nach einem raschen Abfall der Titer hält sich der Immunitätsstatus der Herde bis zur Revakzination in der 20. Lebenswoche (17 Wochen p.i.) nahezu konstant. Die Verteilung der TKZ zu diesem Zeitpunkt ergibt ein Maximum der Tiere mit der TKZ = 2.

Die Revakzination, die unter Einhaltung der gleichen Bedingungen wie die erste Impfung vorgenommen wurde, erbrachte bei der Untersuchung nach 3 Wochen nur einen mäßigen Antikörperanstieg, wobei sich hohe Titerwerte als Ausdruck eines guten Boostereffektes und negative Titer gegenüberstehen. Ein leichter weiterer Anstieg ist jedoch bei dieser Herde, die bis zur 7. Woche nach der Revakzination beobachtet werden konnte, bei der Untersuchung zu diesem Zeitpunkt festzustellen.

4.1.2 Versuch 2, LaSota-Käfighaltung

Der Versuch wurde an einer Gruppe von 10.000 Tieren in mehreren Käfigreihen durchgeführt, wobei die Kontrolltiere in einer Käfigreihe saßen. Die Reihe hatte eine Länge von 30 m, die einzelnen Käfige mit einer Grundfläche von 1 x 1 m verfügten über 4 Nippeltränken und waren bis zur 5. Lebenswoche mit 75 Tieren besetzt. Danach wurde der Besatz auf 25 Tiere reduziert, wobei die restlichen 50 Tiere auf die beiden darunterliegenden Käfige verteilt wurden.

Die Wasserversorgung erfolgte über einen höher gelegenen Vorratsbehälter für jede Reihe gesondert ohne Druckpumpe. Vor der Impfung wurde das Leitungssystem entleert, um die Tiere für einige Zeit dursten zu lassen. Das impfstoffhaltige Wasser war nach 8 Minuten am letzten Nippel angekommen und stand den Tieren für etwa 1 1/2 - 2 Stunden zur Verfügung.

Die Kontrolltiere saßen zu einem Drittel im ersten Käfig, zu einem Drittel in der Mitte und der Rest am Ende der gleichen Käfigreihe.

Die Tiere dieses Versuches hatten den gleichen Ursprung wie in Versuch 1, die Prüfung der maternalen Immunität der Eintagsküken ergab ein arithmetisches Mittel der TKZ von 3,4. Zum Zeitpunkt der ersten Impfung konnte genau wie in Versuch 1 ein Mittel der TKZ von 0,2 festgestellt werden. Der weitere Verlauf des Versuches ist aus Tabelle 2 und Abbildung 2 ersichtlich.

Zwei Wochen nach der Impfung konnten bei den Kontrolltieren Titerwerte von 1 : 2 bis 1 : 256 (TKZ = 9) ermittelt werden. Auch in diesem Versuch reagierte keines der Kontrolltiere negativ. Die Verteilung war, wie aus Abb. 2 ersichtlich, wesentlich breiter, kann aber doch als normal angesehen werden.

Versuch 2

TKZ	arithmet. Mittel d. TKZ	Verteilung der TKZ								
		x0	x2	x3	x4	x5	x6	x7	x8	x9
bei der 1. Impfg.	0,2	53	7	0	0	0	0	0	0	0
2 Wo.p.i.	4,9	0	4	9	14	11	11	7	3	1
3 Wo.p.i.	3,5	9	10	12	9	6	11	1	1	1
6 Wo.p.i.	2,0	20	13	11	9	4	0	0	0	0
16 Wo.p.i.*	2,9	7	10	24	6	5	3	0	0	0
3 Wo.p.r.	3,3	8	10	10	16	6	3	3	0	0

Tab. 2 : Verlauf der Antikörperbildung bei LaSota-Impfung in Käfighaltung. HAH-Titer in TKZ umgerechnet.
*Zeitpunkt der Revakzination

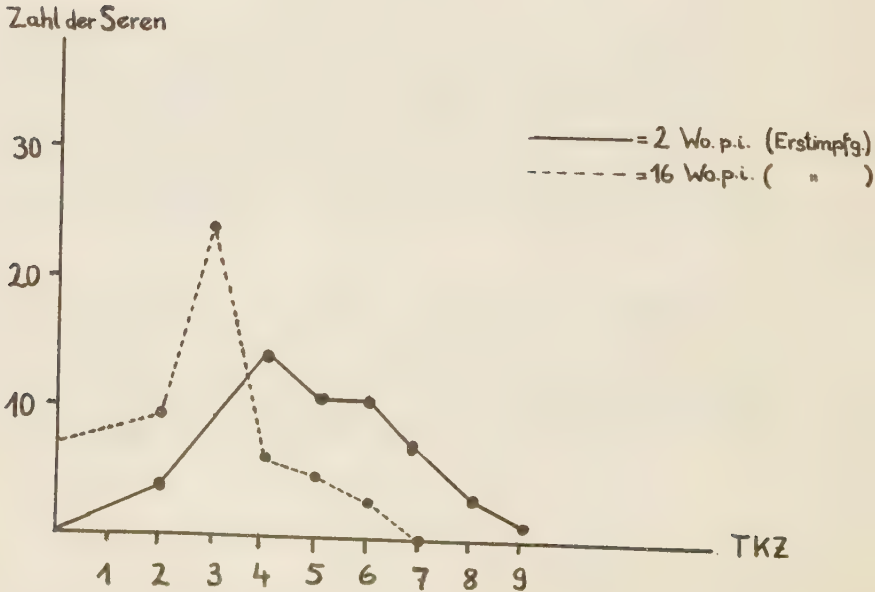


Abb. 2: Verteilung der TKZ

Auch in diesem Versuch ist ein schneller Abfall der Mittelwerte der Titer festzustellen, wobei allerdings 3 Wochen nach der Impfung ein geringer Anteil der Tiere keine haemagglutinationshemmenden Antikörper zeigt. Die Titerwerte fallen weiter bis zur 6. Woche ab, um dann in den folgenden 10 Wochen relativ konstant zu bleiben bzw. sogar leicht anzusteigen (Abb. 5). Höhere Titerwerte von 1 : 32 (TKZ = 6) und mehr sind um die 6. Woche p.i. und später nicht mehr nachzuweisen. Die Verteilung der TKZ bei der Revakzination zeigt einen Titer von 1 : 4 (TKZ = 3) bei den meisten Tieren.

3 Wochen nach der Revakzination sind 8 von 56 Kontrolltieren ohne Titer, 3 Tiere erreichen Werte von 1 : 64 (TKZ = 7). Der Anstieg der Mittelwerte der TKZ von 2,9 zum Zeitpunkt der Revakzination um nur 0,4 auf 3,3 drei Wochen später spricht nicht für eine gute Boosterwirkung.

4.2 Immunantwort nach Impfung mit dem Stamm Hitchner B₁ (Versuch 3 und 4)

4.2.1 Versuch 3, Hitchner B₁-Käfighaltung

Für diesen Versuch standen 6.500 Küken in einem Stall mit zwei Käfigreihen, die eine Länge von 47 Metern hatten, zur Verfügung. Die Käfiggröße und der Besatz entsprach den Einzelheiten in Versuch 2 mit dem Unterschied, daß die Wasserversorgung über eine Druckpumpe lief. Die Durchlaufzeit des impfstoffhaltigen Wassers bis zum letzten Nippel betrug 12 Minuten, dieses Wasser stand den Tieren etwa 1 1/2 Stunden zur Verfügung.

Die Verteilung der Kontrolltiere entsprach derjenigen in Versuch 2 am Anfang, in der Mitte und am Ende einer Reihe.

Versuch 3

TKZ	arithmet. Mittel d. TKZ	Verteilung der TKZ							
		x0	x2	x3	x4	x5	x6	x7	x8
2 Wo.pi.	1,2	35	12	10	1	0	2	0	0
3 Wo.pi.	1,2	36	12	4	3	0	0	2	1
6 Wo.pi.	1,8	23	24	5	5	1	2	0	0
8 Wo.pi.*	1,9	15	28	8	5	3	0	0	0
1 Wo.p.r.	2,6	18	13	9	7	5	4	1	2
7 Wo.p.r.	1,5	28	13	8	7	2	0	0	0

Tab. 3 : Verlauf der Antikörperbildung bei Hitchner B₁-
Impfung in Käfighaltung. HAH-Titer in TKZ um-
gerechnet.

* Zeitpunkt der Revakzination

Zahl der Seren

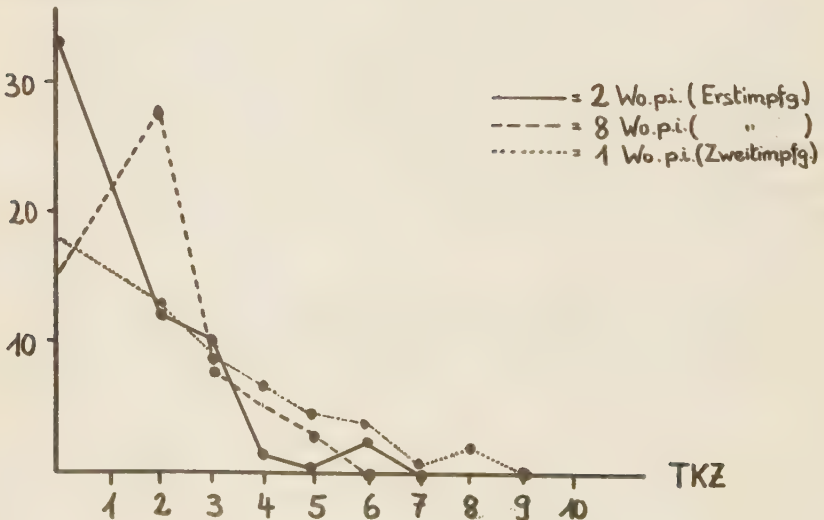


Abb. 3: Verteilung der TKZ

Die Prüfung der maternalen Antikörper der Eintagsküken dieser Gruppe ergab einen Mittelwert der Titerkennzahlen von 3,6, die Elterntierherde war ca. 2 Monate zuvor mit Hitchner B₁-Impfstoff letztmalig vakziniert worden. Zum Zeitpunkt der 1. Impfung mit Vakzine Hitchner B₁ im Alter von 3 Wochen fanden sich keine Titer bei den 60 Kontrolltieren.

Die Ergebnisse dieses Versuches zeigt Tabelle 3 und Abbildung 3.

Es fällt auf, daß bei über 50 % der Kontrolltiere 2 und 3 Wochen nach der Impfung keine Titer festzustellen sind. Der überwiegende Anteil der reagierenden Tiere zeigt Titer von 1 : 2 bzw. 1 : 4, nur in 3 Fällen finden sich Werte von 1 : 8 bzw. 1 : 32. Nach einer weiteren Woche hat sich der Immunitätsstatus der Herde, gemessen an den Kontrolltieren, im Mittelwert der TKZ von 1,2 nicht verändert. Die Verteilung der Titerkennzahlen ist, wie Abb. 3 verdeutlicht, in keiner Weise mit einer Normalverteilung in Einklang zu bringen. Wie aus der Abb. 6 ersichtlich, steigt das arithmetische Mittel der TKZ bis zur Revakzination (11. Lebenswoche, 8 Wochen nach der ersten Impfung) leicht an.

Infolge äußerer Umstände in dem betreffenden Betrieb war eine Blutentnahme 2 oder 3 Wochen nach der Revakzination (p.r.) nicht möglich, so daß bereits nach einer Woche p.r. eine Überprüfung stattfinden mußte. Wie die Tab. 3 zeigt, waren zuvor innerhalb dieser Zeit bei einzelnen Kontrolltieren höhere Titer, zweimal sogar bis 1 : 128 (TKZ = 8) festzustellen, indessen läßt die Verteilung der Titer, die hohe Zahl der nicht reagierenden Tiere und schließlich deren Zunahme nach weiteren 6 Wochen nicht die Schlußfolgerung zu, daß die Revakzination einen befriedigenden Boostereffekt herbeigeführt hat.

Versuch 4

TKZ	arithmet. Mittel d. TKZ	Verteilung der TKZ					
		x 0	x 2	x 3	x 4	x 5	x 6
2 Wo. p.i.	1,4	25	27	4	3	1	0
3 Wo. p.i.	2,0	15	26	9	9	0	0
6 Wo. p.i.	0,1	53	0	1	1	0	0
9 Wo. p.i.*	0,4	47	5	3	1	0	0
3 Wo. p.r.	2,0	25	9	1	3	7	5

Tab. 4: Verlauf der Antikörperbildung bei
Hitchner B₁-Impfung in Bodenhaltung.
HAH-Titer in TKZ umgerechnet
* Zeitpunkt der Revakzination

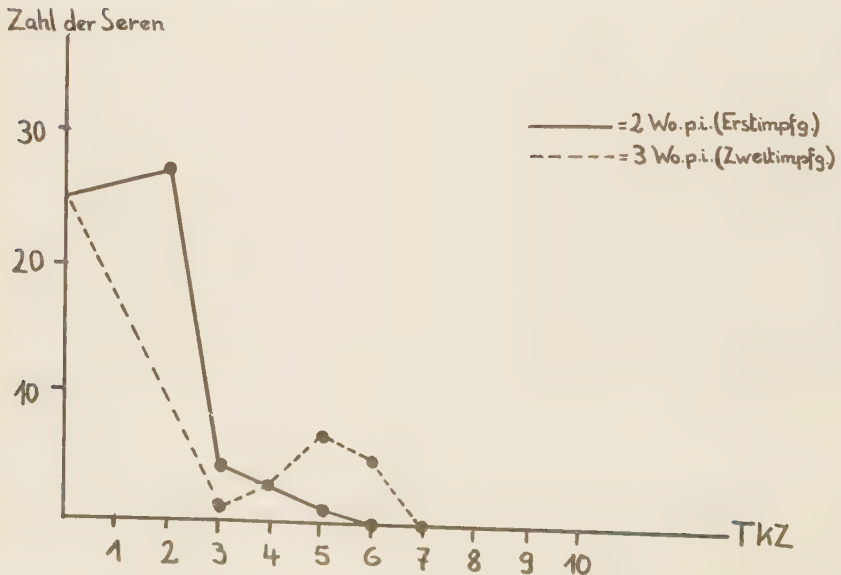


Abb. 4: Verteilung der TKZ

4.2.2 Versuch 4, Hitchner B₁-Bodenhaltung

Der Versuch wurde im gleichen Stall und unter völlig identischen Bedingungen wie Versuch 1 an der gleichen Tierzahl durchgeführt. In Abweichung von den bisherigen Versuchen war diese Kükenherde als Eintagsküken gegen Mareksche Krankheit vakziniert. Die Elterntiere waren letztmalig ca. 2 1/2 Monate zuvor gegen Newcastle-Krankheit mit Hitchner B₁-Vakzine geimpft worden. Die Überprüfung der maternalen Antikörper bei Küken des gleichen Schlupfes ergab ein Mittel der Titerkennzahlen von 3,8.

Zum Zeitpunkt der ersten Impfung mit 3 Wochen waren bei keinem Kontrollküken haemagglutinationshemmende Antikörper festzustellen.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 4 und Abbildung 4 dargestellt.

Zwei Wochen nach der Impfung zeigten 25 Tiere, das sind etwa 40 %, keine Reaktion, bei 27 Küken fand sich ein Titer von nur 1 : 2, Die Verteilung der Titerkennzahlen ist völlig unzureichend. Ein leichter Anstieg des Mittelwertes der Titerkennzahlen auf 2,0 ist 3 Wochen p.i. festzustellen, nach weiteren 3 Wochen ist dieser Wert indessen praktisch auf 0 abgesunken.

Die Revakzination mit dem gleichen Impfvirus nach 9 Wochen in der 12. Lebenswoche führte zwar zu einem Titeranstieg bei Einzeltieren bis zu einem Wert von 1 : 32 (TKZ = 6), jedoch zeigten wiederum 25 Tiere keine haemagglutinationshemmenden Antikörper. Ein befriedigender Erfolg dieser Revakzination ist entsprechend der Verteilung der Titerkennzahlen wie auch aufgrund des niedrigen Mittelwertes von 2,0 nicht zu konstatieren.

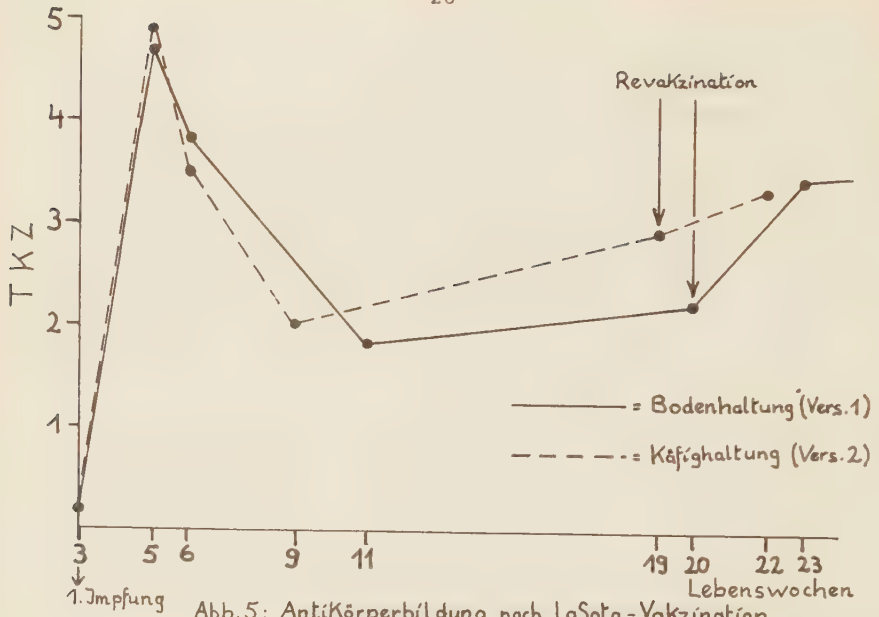


Abb. 5: Antikörperbildung nach LaSota-Vakzination
(arithmet. Mittelwerte der HAH-Titerkennzahlen von 60 Plasmaproben)

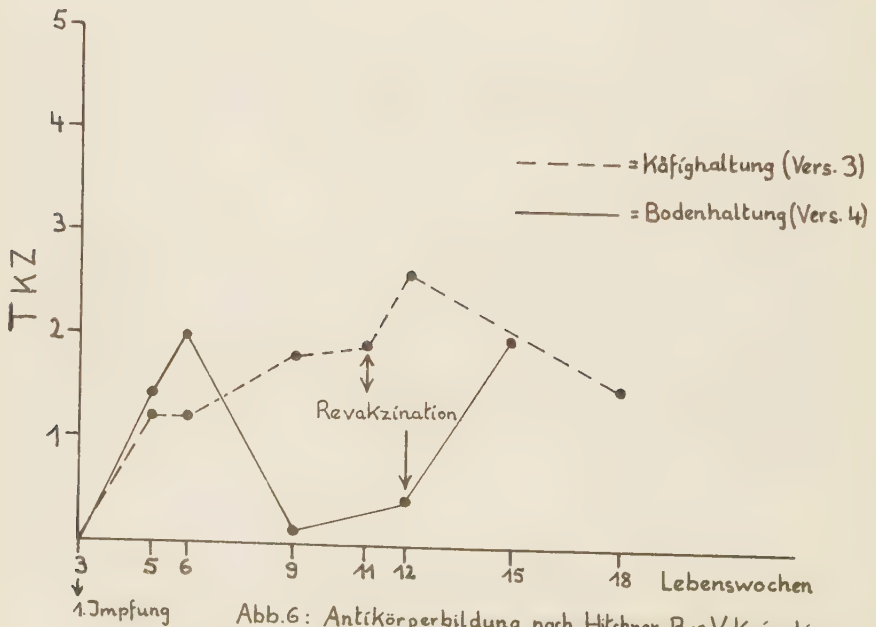


Abb. 6: Antikörperbildung nach Hitchner-B₁-Vakzination
(arithmet. Mittelwerte der HAH-Titerkennzahlen von 60 Plasmaproben)

5. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die vorliegenden Untersuchungen wurden durchgeführt um festzustellen, ob mit den heute zur Verfügung stehenden Trinkwasser-Vakzinen gegen die Newcastle-Krankheit auf der Basis der Stämme Hitchner B₁ und LaSota bei routinemäßiger Anwendung in der Käfig- bzw. Bodenhaltung ein ausreichender Impfschutz zu erreichen ist.

Prinzipiell wurde bei der Durchführung der Impfungen "praxismäßig" vorgegangen. Dazu wurde die erforderliche Impfstoffmenge für die betreffende Tierzahl in einer überschlagsmäßig errechneten Wassermenge gelöst und den Tieren über die zur Verfügung stehenden Tränksysteme verabreicht. Abgesehen von einer kurzen Durstperiode vor den Impfungen erfolgten vor, während und nach den Impfterminen in den Beständen keinerlei Manipulationen, die den Impferfolg günstig oder ungünstig beeinflussen konnten.

Die Haltungsbedingungen und das Tiermaterial in den Versuchsbetrieben entsprachen den heute gültigen Normen für die Boden- und Käfighaltung. Die Leitung und Einrichtung der Betriebe sowie die hygienischen Bedingungen dürften sogar als über dem Durchschnitt liegend anzusehen sein.

Bei der Überprüfung der Virustiter der verwendeten Vakzinen unter Hinzuziehung von Proben aus den gleichen Chargen ergab sich in allen Fällen ein ausreichender Virusgehalt, der über den in den Richtlinien (44) geforderten Titerwerten lag. Rein rechnerisch standen bei jeder der durchgeführten Impfungen pro Tier eine Virusmenge von durchschnittlich 10^7EID_{50} zur Verfügung. Das ist selbstverständlich ein theoretischer Wert, der lediglich bestätigt, daß die in die Vorlaufbehälter eingebrachte Impfstoffmenge für eine Immunisierung ausreichend war (40, 65). Nicht berücksichtigt ist dabei

diejenige Virusmenge, die durch Einflüsse innerhalb des Trinkwassersystems bis zur Aufnahme durch die Tiere verlorengegangen sein kann.

Betrachtet man die Ergebnisse der durchgeführten Impfungen in ihrer Gesamtheit, so dürfen diese durchaus als unbefriedigend anzusprechen sein, insbesondere bei den Hitchner B₁-Versuchen. Dabei ist hervorzuheben, daß der Zeitpunkt der Erstimpfungen mit drei Wochen offensichtlich richtig gewählt worden war, denn die Überprüfung des Immunstatus zeigte eine nahezu völlige Eliminierung der maternalen Antikörper.

Im einzelnen gesehen läßt sich in Versuch 1 mit der LaSota-Vakzine in Bodenhaltung eine erfolgreiche Infektion aller Tiere feststellen, wenn man die bei allen Tieren vorhandenen HAH-Antikörper als Beweis für eine solche ansieht. Die Titerkennzahlen erreichten 14 Tage p.i. ein arithmetisches Mittel von 4,7. Auch die gleichmäßige Verteilung der Titerwerte über alle Abteile des Stalles spricht für eine gleichmäßige Impfvirusverbreitung im gesamten Bestand.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den gewonnenen Daten aus dem vierten Versuch, der unter völlig identischen Bedingungen durchgeführt wurde, so ist ein wesentlicher Unterschied schon allein in der Zahl der nach 2 Wochen reagierenden Tiere augenscheinlich, da im 4. Versuch etwa 40 % der untersuchten Küken keine Titer aufwiesen. Es zeigt sich, daß eine gleichmäßige Impfinfektion mit dem Stamm LaSota offensichtlich einfacher gelingt als mit dem Stamm Hitchner B₁. Diese Beobachtung läßt sich mit dem etwas höheren Pathogenitätsindex des LaSota-Stammes (25) und der nachgewiesenen niedrigeren zur Infektion nötigen Minimaldosis (40, 65) erklären.

Überraschend ist der schnelle Abfall der Titerwerte in Versuch 1 und 2, der auf die in diesem Alter noch unzureichende immunologische Kompetenz der Küken (13, 24) zurückzuführen sein dürfte. Die erst im Alter von etwa 6-8 Wochen ausgereifte Fähigkeit zur Immunantwort könnte eine Erklärung für das leichte Ansteigen des Immunstatus der Herden bis zur Revakzination geben. Dieser Wiederanstieg der HAH-Titerwerte tritt am deutlichsten in Versuch 2 (La-Sota-Käfighaltung) in Erscheinung. Andererseits könnten für den Wiederanstieg auch unspezifische Faktoren verantwortlich sein, die bei den Untersuchungen nicht ausgeschlossen werden konnten.

Gewisse Schwankungen der Titerwerte, wie sie z.B. in Versuch 1 auftraten, wobei 2 Wochen p.i. 0 Tiere, 3 Wochen p.i. 31 und 8 Wochen p.i. 16 Tiere keine nachweisbaren HAH-Titer zeigten, können durch verschiedene ungünstige äußere Einflüsse auf die Blutproben beim Transport zum Laboratorium entstanden sein. Diese nicht näher untersuchbaren Faktoren treffen auf alle vier Versuche zu. Die Aussagekraft der Ergebnisse dürfte jedoch hierdurch nur geringfügig beeinträchtigt sein.

Verglichen mit dem Impferfolg bei Bodenhaltung (Rinnentränken) sind die Ergebnisse bei der Käfighaltung (Nippeltränken) mit dem Stamm LaSota überraschend gut. Dies betrifft sowohl die Titerwerte als auch deren Verteilung. Daraus kann gefolgert werden, daß mit dem LaSota-Impfstamm auch bei dieser Haltungsform eine Massenvakzination erfolgversprechend ist.

Weniger zufriedenstellend sind die Ergebnisse der Revakzination bei den LaSota-Versuchen in der 19. bzw. 20. Lebenswoche (d.h. 16 und 17 Wochen nach der Erstimpfung). Ein ausgesprochener Boostereffekt konnte nicht festgestellt werden,

was bei der Käfighaltung in Versuch 2 besonders deutlich wird. Der schlechte Erfolg der Revakzination könnte in beiden Fällen mit der in den Beständen noch vorhandenen Restimmunität in Verbindung stehen, die eine ausreichende Vermehrung des Impfvirus verhinderte. Verfolgt man jedoch unter diesem Gesichtspunkt den Titerverlauf bei Einzeltieren, so hätte bei denjenigen, die zum Zeitpunkt der Zweitimpfung über keine oder niedrige Titer verfügten, eine stärkere Boosterwirkung eintreten müssen. Eine Bestätigung dieser Vermutung konnte jedoch in den Versuchsprotokollen nicht gefunden werden, vielmehr ergibt sich aus den einzelnen Titerverläufen in keinem Falle ein Anhaltspunkt für die schlechte Immunantwort.

Äußerst unbefriedigend sind die Ergebnisse der Impfungen mit der Hitchner B_1 -Vakzine. Besonders auffällig dabei ist der hohe Prozentsatz der negativen Werte. Sowohl in der Bodenhaltung als auch in der Käfighaltung konnten nach der 1. Impfung bei etwa der Hälfte der Tiere keine haemagglutinationshemmenden Antikörper nachgewiesen werden. Die daraus resultierende, nicht im Bereich der Normalverteilung liegende Kurve der TKZ wird zusätzlich noch etwas dadurch verfälscht, daß in den Versuchen nicht das Prinzip der zufälligen Probenentnahme eingehalten wurde, sondern jeweils bei den 60 markierten Tieren der Immunstatus verfolgt wurde.

Während bei den in Käfigen gehaltenen Tieren bis zur Revakzination ein leichter Anstieg der Antikörperwerte zu verfolgen war, sanken dagegen die Titer der Tiere in Bodenhaltung fast bis zum Nullwert. Dieser steile Antikörperabfall traf zeitlich mit einer bakteriellen Darmentzündung zusammen, die eventuell damit ursächlich in Zusammenhang gebracht werden kann.

Die unerwartet schlechten Ergebnisse mit der Hitchner B_1 -Vakzine wiederholten sich auch bei der Revakzination. In be-

zug auf die Immunisierung der Herden können diese überprüften Impfungen als unzureichend angesehen werden. Möglicherweise hätte bei einer Untersuchung der Herde in Käfighaltung (Versuch 3) nach 2-3 Wochen p.r. noch ein günstigeres Ergebnis gefunden werden können, indessen zeigt der rasche Abfall der mittleren Titerwerte (Abb. 6) jedoch deutlich, daß von einer ausreichenden Impfreaktion nicht gesprochen werden kann.

Die in den Versuchen gewonnenen Ergebnisse lassen für die praktische Immunisierung gegen die Newcastle-Krankheit einige Schlußfolgerungen zu, die für eine wirksamere Bekämpfung der Krankheit herangezogen werden können. Insbesondere bei den Untersuchungen mit der Hitchner B₁-Vakzine zeigte sich, daß die rechnerisch zwar ausreichend ins Trinkwasser verbrachte Virusmenge offensichtlich im Leitungssystem größeren als erwarteten schädigenden Einflüssen ausgesetzt war und somit letztlich pro Tier zu wenig Virus zur Verfügung stand. Daraus ergibt sich auch für sorgfältig durchgeführte routinemäßige Impfungen die Notwendigkeit einer Nachprüfung des Impferfolges, denn ein durchschnittlicher HAH-Titer von 1:2 und darunter bedeutet bestimmt keinen ausreichenden Schutz einer Herde vor Feldinfektionen. Diese Gesichtspunkte lassen die Problematik starrer Impfschemata erkennen. Besonders in Zeiten erhöhter Seuchengefahr erscheint eine regelmäßige Kontrolle des Immunstatus der Herden Voraussetzung für eine wirksame Bekämpfung der Krankheit zu sein.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In Feldversuchen wurde die Immunitätsbildung nach Trinkwasser-Vakzinationen mit den handelsüblichen lentogenen Impfvirusstämmen Hitchner B₁ und LaSota an vier Kükenherden überprüft. Die Impfungen erfolgten vergleichend in Betrieben mit Boden- und Käfighaltung.

Neben der Überprüfung der maternalen Antikörper wurden zu verschiedenen Zeiten nach der Erstimpfung und Revakzination Blutproben zur Untersuchung auf Vorliegen und Bildung von HAH-Antikörpern entnommen.

Die Ergebnisse der Impfungen mit der LaSota-Vakzine in Boden- und Käfighaltung erbrachten bei allen kontrollierten Tieren eine Antikörperbildung, die 14 Tage p.i. maximale Werte erreichte, jedoch in den folgenden 3-4 Wochen wieder stark abfiel. Die Impferfolge der Revakzination waren nicht zufriedenstellend, da eine typische Boosterwirkung nicht festgestellt werden konnte.

Die Anwendung der Hitchner B₁-Vakzine brachte in der Boden- und Käfighaltung noch schlechtere Ergebnisse, die auch nach der Revakzination unbefriedigend blieben.

Mögliche Fehlerquellen bei den durchgeführten Impfungen sowie die Problematik der Verabreichung von Lebendvakzinen über das Trinkwasser werden diskutiert.

7. SUMMARY

FIELD TRIALS WITH VACCINATION AGAINST NEWCASTLE DISEASE COMBINED WITH MONITORING OF THE IMMUNE RESPONSE

The immune response after water vaccination using commercial vaccine strains Hitchner B₁ and LaSota was monitored in field trials comparing 4 pullet flocks. For comparison, trials were carried out with floor and battery reared birds.

During the trials the maternal antibody status was assessed and blood samples were drawn at various intervals after the first and second vaccination to follow the development of HI-antibody titers.

Results of vaccination with LaSota strain showed titers reaching a peak 14 days p.v. with a sharp decline during the following 3-4 weeks in both floor and battery reared birds. The response to vaccination remained unsatisfactory since a typical booster effect could not be observed.

Results with the Hitchner B₁ strain were inferior, even after revaccination in both floor and battery reared birds.

Possible faults and problems of the application of live virus vaccines via the drinking water are discussed.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAMS, E.V.: Differential response of cultured chicken glial cells to infection with virulent and non-virulent strains of Newcastle disease virus. Poultry Sci. 49, 229 (1970)
2. ANDRÉ, V.: Zur Sprayimmunisierung der Hühner gegen Newcastle-Disease. Dtsch. tierärztl. Wschr. 73, 279 (1966)
3. BEARD, C.W. and B.C. EASTERDAY: The influence of the route of administration of Newcastle disease virus on host response. 1. Serological and virus isolation studies. J. Infect. Dis. 117, 55 (1967)
4. BEARD, C.W. and B.C. EASTERDAY: The influence of the route of administration of Newcastle disease virus on host response. 2. Studies on artificial passive immunity. J. Infect. Dis. 117, 62 (1957)
5. BEARD, C.W. and B.C. EASTERDAY: The influence of the route of administration of Newcastle disease virus on host response. 3. Immunofluorescent and histopathological studies. J. Infect. Dis. 117, 66 (1967)
6. BENDHEIM, U.: Zur Anwendung von Hitchner B₁-Trinkwasser-vaccine bei Legehennen. Der prakt. Tierarzt 46, 201 (1965)
7. BENGLSDORFF, H.-J.: Experimentelle und praktische Erfahrungen mit der Geflügelpest-Lebendviren-Adsorbat-vaccine Galivac. Die Blauen Hefte f.d.Tierarzt 37, 26 (1968)
8. BENGLSDORFF, H.-J.: Impfschutz und Antikörperentwicklung nach kombinierter Anwendung von Newcastle Disease- und infektiöser Bronchitis-Vaccine. Die Blauen Hefte für den Tierarzt 45, 183 (1971)
9. BENGLSDORFF, H.-J., W. BECKER u. B. TIEFENBACH: Bi-Vaccine NCP zur Auffrischung gegen atypische Geflügelpest (Newcastle Disease). Die Blauen Hefte f.d. Tierarzt 36, 26 (1968)

10. BENGELSDORFF, H.-J. und O. JAEGER: Beziehungen zwischen dem Auftreten haemagglutinationshemmender und präzipitierender Antikörper bei Hühnern nach Verabreichung von Newcastle-Disease-Virus. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 196, 1 (1965)
11. BENGELSDORFF, H.-J. und J.B. KAYER: Vergleichende Untersuchungen über Unschädlichkeit und Immunisierungsvermögen verschiedener Newcastle Disease-Virusstämme bei Küken. Die Blauen Hefte f.d. Tierarzt 44, 140 (1970)
12. BOX, P.G., B.J. HELLIWELL and P.H. HALLIWELL: Newcastle disease in turkeys. Vet.Rec. 86, 524 (1970)
13. BUSCHMANN, H.: Reifung und Alterung der immunologischen Kompetenz. Tierärztl. Umschau Nr. 11, 1970, 525
14. DIGIOIA, G.A., J.J. LICCIARDELLO, J.T. NICKERSON, and S.A. GOLDBLITH: Thermal inactivation of Newcastle disease virus. Apl. Microbiol. 19, 451 (1970)
15. DORN, P.: Handbuch der Geflügelkrankheiten. Verl. Eugen Ulmer, Stuttgart (1971)
16. DORN, P.: Geflügelpest - noch immer aktuell. Deutsche Geflügelwirtschaft 48, 1262 (1971)
17. EISSNER, G.: Standardisierung von Vaccinen gegen die atypische Geflügelpest (Tod-Vaccine). Proc. 6. Intern. Congress Microbiol. Stand. 417-428, Hoffmann Verlag Berlin-Köln (1960)
18. ESTUPINAN, J., J. SPALATIN and R.P. HANSON: Use of yolksac route of inoculation for titration of lentogenic strains of N.D.V. Avian Dis. 12, 135 (1968)
19. FRITZSCHE, K.: Rück- und Ausblick auf die Hühnerpest. Dtsch. Geflügelwirtschaft 45, 1195 (1971)
20. FRITZSCHE, K. und E. GERRIETS: Geflügelkrankheiten. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg, 2. Auflage (1962)

21. GENTRY, R.F. and M.O. BRAUNE: Prevention of virus inactivation during drinking water vaccination of poultry. Vortrag, gehalten auf dem Weltgeflügelkongreß in Madrid. 1971
22. GRASHUBER, W. und W. STÖCKEL: Vergleichende Untersuchungen über Hämagglutinationshemmung, Gamma-Globulingehalt und Immunität nach Impfung mit Geflügelpest-Adsorbatvakzine. Arch. exper. Vet.med. 8, 404 (1954)
23. GRATZL, E. und H. KÖHLER: Spezielle Pathologie und Therapie der Geflügelkrankheiten. Ferdinand Enke-Verlag, Stuttgart (1968)
24. GRUBER, F.: Studien zur Bestimmung der Immunglobulinspiegel am Beispiel normaler, gnotobiotischer und konventionalisierter Küken. Dissertation med.vet., München (1968)
25. HANSON, R.P., J.SPALATIN, J. ESTUPINAN, and G. SCHLOER: Identification of lentogenic strains of Newcastle disease virus. Avian Dis. 11, 49 (1967)
26. HARTWICK, H. und K. TAUBITZ: Atypische Geflügelpest (Newcastle-Disease) bei geimpften und nichtgeimpften Tieren. Arch. Geflügelk. 18, 89 (1954)
27. HARTWICK, H. und F. UNTERMANN: Doppelimpfung zur prophylaktischen Immunisierung von Hühnern gegen Hühnerpest und Hühnerpocken. Berl.Münch. tierärztl. Wschr. 75, 94 (1962)
28. HITCHNER, S.B., and E.P. JOHNSON: A virus of low virulence for immunizing fowls against Newcastle disease. Vet. Med. 43, 525 (1948)
29. HOFSTAD, M.S., J.S. PICKEN, Jr., K.E. COLLINS, and H.W. VODER, Jr.: Immunogenicity of inactivated Newcastle disease virus preparations. Avian Dis. 7, 435 (1963)
30. JANSSEN, W. und H. LÜDERS: Vergleichende Untersuchungen über die Entwicklung hämagglutinationshemmender Antikörper nach Vakzinierung gegen die Newcastle Disease mit den Stämmen LaSota und Hitchner B₁ sowie deren Verträglichkeit im Feldversuch. Dtsch.tierärztl. Wschr. 78, 579 (1971)

31. KALETA, E.F.: Kinetik der N.D. spezifischen maternalen Antikörper der Hühnerküken. Vortrag auf der Tagung der DVG in Kitzingen, 1970
32. KALETA, E.F. und O. SIEGMANN: Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis hämagglutinationshemmender und virusneutralisierender Antikörper nach Vaccinationen gegen die Newcastle-Disease. Archiv f.Geflügelkunde 35, 79 (1971)
33. KENDAL, A.P., and W.H. ALLAN: Comparative studies of Newcastle disease viruses. 1. Virulence, antigenic specificity and growth Kinetics. Microbios 7-8, 273 (1970)
34. LANCASTER, J.E.: Newcastle disease-coftrol by vaccination. Vet. Bull. 34, 57 (1964)
35. LANDGRAF, H. und E. VIELITZ: Untersuchungen über den Impferfolg nach Anwendung verschiedener Impfprogramme und Impfvirusarten bei der Geflügelpest. Dtsch.tierärztl. Wschr. 77, 393 (1970)
36. LUGINBUHL, R.E., E.L. JUNGHER und T.W. CHOMIAK: Administration of Newcastle disease and infections bronchitis vaccines through the drinking water. Poultry Sci. 34, 1399 (1955)
37. LÜTHGEN, W.: Bildung haemagglutinationshemmender Antikörper gegen die Newcastle-Disease (atypische Geflügelpest) nach Vaccination mit Hitchner B₁-Trinkwasser-Vaccine bei Käfighaltung, sowie der Einfluß auf die Legeleistung bei unvollständig oder nicht geimpften Legehennen. Dtsch. tierärztl. Wschr. 78, 539 (1971)
38. Methods for the Examination of Poultry Biologics. National Academy of Science. 2nd (revised) Edition, Washington, D.C. (1963)
39. MONREAL, G.: Die Immunitätsbildung bei der Newcastle-Krankheit und ihre Ausnutzung für die Prophylaxe. Vortrag, gehalten in Bad Oehnhäusen (1971)
40. MONREAL, G., H.-M. OPITZ und V. KRAFT: Untersuchungen über die Minimaldosis von Newcastle-Trinkwasserimpfstoffen. Tierärztl. Umschau 26, 575 (1971)

41. POHL, R.: Untersuchungen über die Pathogenität eines aus Papageien isolierten Newcastle disease-Virus für Hühner. Berlin-Münch. tierärztl. Wschr. 84, 191 (1971)
42. RAMYAR, H., and V. SOHRAB: Review of attenuated live virus-vaccines. Office International Des Epizootics 1, 342 (1965)
43. REED, L.J., and H. MUENCH: A simple method of estimating fifty per cent endpoints. Am.J.Hyg. 27, 493 (1938)
44. Richtlinien für die Herstellung und Prüfung von Lebendvakzine zur Immunisierung gegen atypische Geflügelpest (Newcastle-Disease). 1971
45. ROTT, R.: Untersuchung über die Feinstruktur des infektiösen Partikels der Newcastle Disease und über die neben ihm auftretenden, nichtinfektiösen, virus-spezifischen Einheiten. Zbl. Vet.Med. Reihe b 12, 74 (1965)
46. RUNDFELDT, H., O. SIEGMANN, E.F. KALETA und A. LÜDERS: Statistisch abgesicherte Erfolgskontrolle nach Geflügelpocken-Schutzimpfungen. Dtsch. tierärztl. Wschr. 75, 582 (1968)
47. SATO, S., J. NONOMURA, F. SHIMIZU, S. SHOYA, and T. HORIUCHI: Mixed infection with Mycoplasma gallisepticum and the B₁ strain of Newcastle disease virus in chickens. Nat.Inst.Anim. Hlth.Quart. 10, 58 (1970)
48. SCHMIDT, U. und D. SCHMIDT: Über die Beziehungen der hämagglutinationshemmenden Antikörper zur Immunität nach Vakzinierung gegen Geflügelpest. Arch. exper. Vet.-Med. 9, 505 (1955)
49. SCHNEIDER, B.: Zur Frage der konsekutiven Schutzimpfung gegen atypische Geflügelpest mit toter Adsorbat-vaccine und schwach virulentem Lebendvirus. Vet.Med.Nachr. 2, 195 (1954)
50. SCHNEIDER, B.: Untersuchungen zur peroralen Vaccination gegen die atypische Geflügelpest. Berl.Münch. Tierärztl. Wschr. 73, 41 (1960)

51. SCHNEIDER, B. und H.-J. BENGELSDORFF: Newcastle Disease-
Immunisierungsprogramme und Empfänglichkeit der Kü-
ken immuner Hennen. Berl.Münch. tierärztl.Wschr. 76,
371 (1963)
52. SIEGMANN, O.: N.D. Vaccinationskontrolle. Vortrag, gehal-
ten beim 9. Fachgespräch über Geflügelkrankheiten
in Hannover. 1971
53. SIEGMANN, O. und H. LÜDERS: Methodische Fragen der Thera-
pie über das Trinkwasser. Zentralbl. Vet.med. Reihe B
17, 147 (1970)
54. STUMPEL, M.: Beproeving van een vaccin tegen pseudo-vogel-
pest, stam LaSOTA, onder praktijkomstandigheden.
Field trials of a Newcastle disease vaccin, LaSota
strain. Tijdschr. Diergeneesk., deel 87, 13, 894 (1962)
55. SUGIMURA, T., T. KATAOKA, and Z. NAGAISHI: Influence of
congenital passive immunity on the response of
chicks to Newcastle-disease vaccination. Nat.Inst.
Anim. Hlth. Quart. 10, 99 (1970)
56. SUHACI, J., R. URSACHE, E. POPA, V. CHIRITA: Studies on
oral vaccination against Newcastle disease. Archiva
Veterinaria Bucuresti 1,2, 43 (1968)
57. SULLIVAN, J.F., E. GILL, and A.M. SOMER: Immune response
of chickens to beta-propiolactone-killed Newcastle
disease virus. Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med. 91 (2),
288 (1956)
58. TRAUB, E.: Adsorbatimpfstoff zur aktiven Immunisierung
gegen die atypische Geflügelpest. Berl.Münch. Tierärztl.
Wschr. 39 (1953)
59. Verordnung zum Schutz gegen die Hühnerpest vom 16. April
1971. Gesetz und Verordnungsblatt für Berlin, 27. Jahr-
gang Nr. 37, 17. Mai 1971
60. VIELITZ, E. und H. LANDGRAF: Wirksamer Schutz gegen Ge-
flügelpest durch Trinkwasserimpfung. Deutsche Geflü-
gelwirtschaft 23, 83 (1971)
61. VIETEN, A.C., D.H.J. EVANS, and E. WERVEN: Een praktij-
konderzoek betreffende de pseudovogelpestenting in
het entsema voor pluimvee. Tijdschr.Diergeneesk 90,
1401 (1965)

62. WINTERFIELD, R.W., and E.H. SEADALE: Newcastle disease immunization studies. 1. Viability of B₁ Newcastle disease virus administered as a vaccine in the drinking water. Am.J.Vet.Res. 17, 5 (1956)
63. WINTERFIELD, R.W., and E.H. SEADALE: Newcastle disease immunization studies. 2. The immune response of chickens vaccinated with B₁ Newcastle disease virus administered through the drinking water. Poultry Sci. 36, 54 (1957)
64. WINTERFIELD, R.W., and E.H. SEADALE: Newcastle disease immunization studies. 3. The immune response of chickens vaccinated at an early age with B₁ Newcastle disease virus administered through the drinking water under field conditions. Poultry Sci. 36, 65 (1957)
65. WINTERFIELD, R.W., C.L. GOLDMAN and E.H. SEADALE: Newcastle disease immunization studies. 4. Vaccination of chickens with B₁, F and LaSota strains of Newcastle disease virus administered through the drinking water. Poultry Sci. 36, 1076 (1957)
66. WYNOHRADNYK, V.I., M. PAPADOPOL, P. DINCULESCU, J. SUHACI, E. SASU: Laboratory researches on the immunizing value of some attenuated strains of Newcastle disease virus. Archiva Veterinaria Bucuresti 2, 41 (1966)

Herrn Professor Dr. G. Monreal danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die mir stets gewährte Anregung und Unterstützung.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. V. Kraft für seine verständnisvolle Beratung.

Fräulein G. Beyer und Frau T. Klessinger danke ich für ihre technische Hilfe.

Lebenslauf

Als 1. Kind des Tierarztes Dr. Heinrich Kentrup und seiner Ehefrau Sophia, geb. Nagels, wurde ich am 15. März 1928 in Langenberg, Kreis Wiedenbrück, geboren.

In Neuenkirchen, wo mein Vater als prakt. Tierarzt tätig war, besuchte ich bis 1938 die Volksschule und kam anschließend, zuerst auf das Progymnasium in Rietburg, später auf das Gymnasium in Warendorf, wo ich am 1.3.1950 mein Abitur machte.

Im Sommersemester 1951 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität in Giessen, wo ich nach dem Wintersemester 1952 meine tierärztliche Vorprüfung und am 5. Juli 1957 meine tierärztliche Prüfung bestand.

Am 6. Juli 1957 bekam ich meine Bestallung, seit dieser Zeit arbeite ich als Großtier-, Geflügel- und Fleischbeschautierarzt in Rietburg 2 im Kreise Wiedenbrück.

